

⑨ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES

PATENTAMT

⑩ Offenlegungsschrift
⑪ DE 195 42 986 A 1

⑬ Int. Cl. 6:

C 07 D 493/08

C 07 D 493/18

C 07 D 417/06

C 07 D 497/08

C 07 F 7/07

A 01 N 43/90

C 07 F 9/655

A 61 K 31/425

// (C07D 493/08,303:00,315:00) (C07D 493/18,303:00,315:00,321:00) (C07D 497/08,303:00,315:00,327:00)
(C07D 417/06,277:24, 303:12) (C07D 417/06,277:24,315:00)

⑫ Anmelder:

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH
(GBF), 38124 Braunschweig, DE

⑭ Vertreter:

Patentanwälte Dr. Boeters, Bauer, Dr. Meyer, 81541
München

⑯ Erfinder:

Höfle, Gerhard, Prof. Dr., 38124 Braunschweig, DE;
Kiffe, Michael, Dr., 38124 Braunschweig, DE

⑮ Epothilon-Derivate und deren Verwendung

⑯ Die vorliegende Erfindung betrifft Epothilonderivate und
deren Verwendung.

DE 195 42 986 A 1

DEUTSCHES PATENTAMT
BUNDESDRUCKEREI

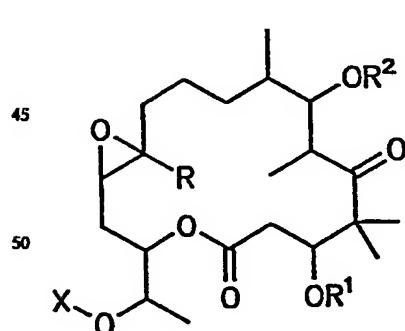
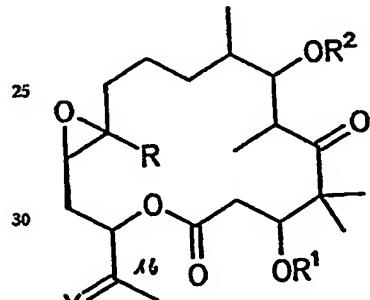
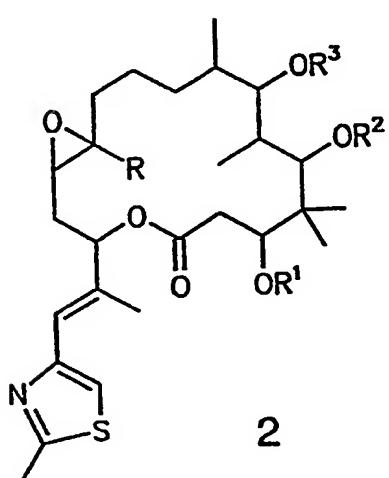
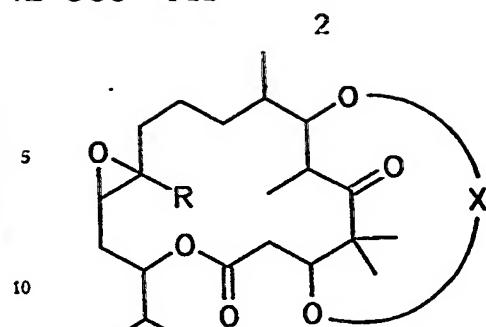
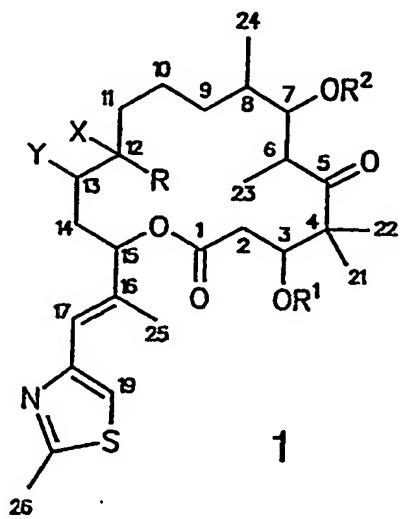
Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

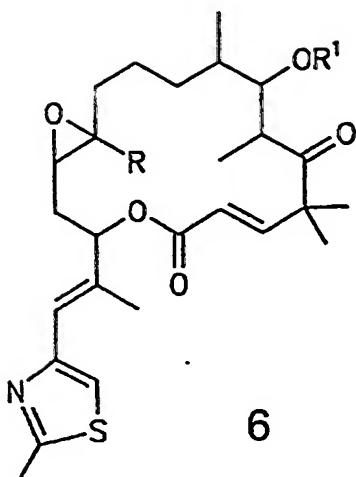
BUNDESDRUCKEREI 03.97 702 021/264

12/29

1
Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein Epothilonderivate und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Herstellung der Epothilonderivate der nachfolgend dargestellten allgemeinen Formeln 1 bis 7 sowie deren Verwendung zur Herstellung von therapeutischen Mitteln und Mitteln für den Pflanzenschutz.





serstoffssäuren in einem bevorzugt nicht wäßrigen Lösungsmittel eingesetzt, wobei man die Halogenhydrine X = Hal, Y = OH und Y = OH, Y = Hal erhält.
5 Protonensäuren wie z.B. Toluolsulfonsäure und Tri-
fluoresigsäure führen in Gegenwart von Wasser zu
10 12,13-Diolen, die anschließend nach Standardverfahren acyliert (z.B. mit Carbonsäureanhydriden und Pyridin oder Triethylamin/DMAP) oder alkyliert (Alkylhalogene-
nide und Silberoxid) werden. Die 3- und 7-Hydroxy-
gruppen können dazu vorübergehend als Formiat (Ab-
spaltung mit NH₃/MeOH) oder p-Methoxybenzylether (Abspaltung mit DDQ) geschützt werden.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 2 sind
15 aus Epothilon A und B sowie deren 3-O- und/oder
7-O-geschützten Derivaten durch Reduktion, z.B. mit
NaBH₄ in Methanol erhältlich. Sind dabei 3-OH und/
oder 7-OH reversibel geschützt, so können nach Acylie-
20 rung oder Alkylierung und Entfernen der Schutzgrup-
pen 5-O-monosubstituierte, 3,5- oder 5,7-O-disubstitu-
ierte Derivate der allgemeinen Formel 2 erhalten wer-
den.

Umsetzungen von Epothilon A und B mit bifunktionellen elektrophilen Reagenzien, wie (Thio)Phosgen,
25 (Thio)Carbonyldimidazol, Thionylchlorid oder Dialkyl-
silyldichloriden bzw. -bistriflaten ergeben Verbindun-
gen der allgemeinen Formel 3. Als Hilfsbasen dienen
dabei Pyridin, Trialkylamine, ggf. zusammen mit DMAP
30 bzw. 2,6-Lutidin in einem nichtprotischen Lösungsmit-
tel. Die 3,7-Acetale der allgemeinen Formel 3 entstehen
durch Umacetalisierung z.B. von Dimethylacetalen in
Gegenwart eines sauren Katalysators.

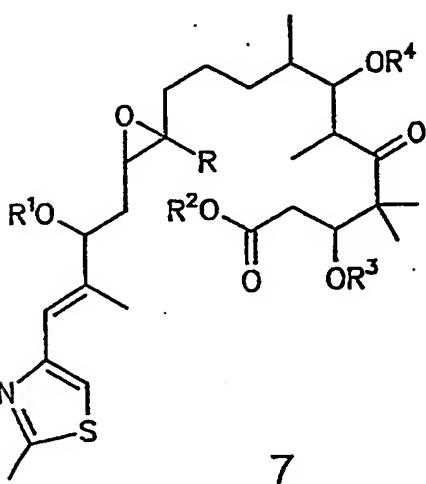
Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 4 werden
35 aus Epothilon A und B oder ihren 3-O- und/oder
7-O-geschützten Derivaten durch Ozonolyse und re-
duktive Aufarbeitung, z.B. mit Dimethylsulfid, erhalten.
Die C-16-Ketone können anschließend nach dem Fach-
mann geläufigen Standardverfahren in Oxime, Hydrazo-
40 ne oder Semicarbazone umgewandelt werden. Sie
werden weiterhin durch Wittig-, Wittig-Horner-, Julia-
oder Petersen-Olefimierung in C-16/C-17-Olefine über-
führt.

Durch Reduktion der C-16-Ketogruppe, z.B. mit ei-
45 nem Aluminium- oder Borhydrid, sind die 16-Hydrox-
yderivate gemäß der allgemeinen Formel 5 erhältlich.
Diese können, wenn 3-OH und 7-OH mit entsprechen-
den Schutzgruppen versehen sind, selektiv acyliert oder
50 alkyliert werden. Die Freisetzung der 3-OH- und 7-OH-
Gruppen erfolgt z.B. bei O-Formyl durch NH₃/MeOH,
bei O-p-Methoxybenzyl durch DDQ.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel 6 werden
aus Derivaten von Epothilon A und B erhalten, bei de-
nen die 7-OH-Gruppe durch Acyl- oder Ethergruppen
geschützt ist, in dem die 3-OH-Gruppe z.B. formyliert,
mesyliert oder tosyliert und anschließend durch Be-
handlung mit einer Base z.B. DBU eliminiert wird. Die
7-OH-Gruppe kann wie oben beschrieben freigesetzt
werden.

Verbindungen der allgemeinen Formel 7 werden aus
60 Epothilon A und B oder deren 3-OH- und 7-OH-ge-
schützten Derivaten durch basische Hydrolyse erhalten,
z.B. mit NaOH in MeOH. Die Carboxylgruppe kann mit
Diazoalkanen nach Schutz der 19-OH-Gruppe durch
Alkylierung in Ester umgewandelt werden.

Die Erfindung betrifft ferner Mittel für den Pflanzen-
schutz in Landwirtschaft, Forstwirtschaft und/oder Gar-
tenbau, bestehend aus einer oder mehreren der vorste-
hend aufgeführten Epothilonderivate bzw. bestehend
aus einem oder mehreren der vorstehend aufgeführten



In den vorstehenden Formeln 1 bis 7 bedeuten:

R = H, C₁- bis C₄-Alkyl;
R¹, R², R³, R⁴, R⁵ = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-
Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis
C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogen-substitu-
iertes Benzyl bzw. Phenyl;

wobei auch zwei der Reste R¹ bis R⁵ zu der Gruppie-
rung -(CH₂)_n- mit n = 1 bis 6 zusammentreten kön-
nen und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl-
bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Re-
ste handelt.

In der Formel 1 sind X und Y entweder gleich oder
verschieden und stehen jeweils für Halogen, OH,
O-(C₁- bis C₆)-Acyl, O-(C₁- bis C₆)-Alkyl, O-Benzoyl.

In der Formel 3 steht X allgemein für -C(O)-,
-C(S)-, -S(O)-, -CR¹R²-, wobei R¹ und R² die
Bedeutung haben wie oben angegeben, und -SIR₂, wo-
bei R die Bedeutung hat wie oben angegeben.

In der Formel 4 bedeutet X Sauerstoff, NOR³,
N-NR⁴R⁵, und N-NHCONR⁴R⁵, wobei die Reste R³
bis R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben.

In der Formel 5 bedeutet X Wasserstoff, C₁- bis
C₁₈-Alkyl, C₁- bis C₁₈-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinna-
moyl.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 1 sind
ausgehend von Epothilon A und B sowie von deren 3-O-
und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Öffnung des
12,13-Epoxids zugänglich. Werden dazu Hydrogenwas-

Epothilonederivate neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

Schließlich betrifft die Erfindung therapeutische Mittel, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen oder einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n). Diese Mittel können insbesondere cytotoxische Aktivitäten entwickeln und/oder Immunsuppression bewirken, so daß sie besonders bevorzugt als Cytostatika verwendbar sind.

Die Erfindung wird im folgenden durch die Beschreibung von einigen ausgewählten Ausführungsbeispielen näher erläutert und beschrieben.

Beispiele

Verbindung 1a

20 mg (0.041 mmol) Epothilon A werden in 1 ml Aceton gelöst, mit 50 µl (0.649 mmol) Trifluoressigsäure versetzt und über Nacht bei 50°C gerührt zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15). Ausbeute: 4 mg (19%) Isomer I; 4 mg (19%) Isomer II

Isomer I:

Rf (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.46
IR (Film): ν = 3440 (m, b, Sch), 2946 (s, gch), 1734 (vs), 1686 (m), 1456 (m), 1375 (w), 1256 (s, Sch), 1190 (w, b, Sch), 1071 (m, Sch), 884 (w), 735 (w) cm⁻¹.
MS (20/70 ev): m/e (%) = 493 (43 [M-H₂O]⁺), 394 (47), 306 (32), 206 (30), 181 (40), 166 (72), 139 (100), 113 (19), 71 (19), 57 (24), 43 (24).
Hochauflösung: C₂₆H₃₉O₆NS
ber.: 493.2498 für [M-H₂O]⁺
gef.: 493.2478

Isomer II:

Rf (Dichlormethan/Aceton 85 : 15): 0.22.
IR (Film): ν = 3484 (s, b, Sch), 2942 (vs, Sch), 1727 (vs), 1570 (w), 1456 (m), 1380 (m), 1265 (s), 1190 (w), 1069 (m), 975 (w), cm⁻¹.
MS (20/70 ev): m/e (%) = 493 (21 [M-H₂O]⁺), 394 (12), 306 (46), 206 (37), 181 (63), 166 (99), 139 (100), 113 (21), 71 (23), 57 (33), 43 (28).
Hochauflösung: C₂₆H₃₉O₆NS
ber.: 493.2498 für [M-H₂O]⁺
gef.: 493.2475

Verbindung 1b

55 mg (0.111 mmol) Epothilon A werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 N Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reini-

gung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 19 mg (32%)

Rf (Dichlormethan/Methanol, 90 : 10): 0.46.

IR (Film): ν = 3441 (s, br, Sch), 2948 (s, Sch), 1725 (vs, Sch), 1462 (m), 1381 (w), 1265 (m), 1154 (w), 972 (m, br, Sch) cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 210 (4.29), 248 (4.11) nm.
MS (20/70 ev): m/e (%) = 529 (13 [M⁺]), 494 (10), 342 (38), 306 (23), 194 (32), 164 (100), 140 (31), 113 (15), 57 (16).

Hochauflösung: C₂₆H₄₀O₆CNS
ber.: 529.2265 für [M⁺]

gef.: 529.2280

Verbindung 1c

25 mg (0.047 mmol) 12-Chlor-13-hydroxy-epothilon A (1b) werden in 1 ml Dichlormethan gelöst, mit 29 mg (0.235 mmol) Dimethylaminopyridin, 151 µl (1.081 mmol) Triethylamin und 20 µl (0.517 mmol) 98%iger Ameisensäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit Eis/Natriumchlorid abgekühlt. Nach Erreichen von -15°C werden dem Reaktionsgemisch 40 µl (0.423 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben und 70 Minuten bei -15°C gerührt. Nach dem ein Dünnenschichtchromatogramm keinen vollständigen Umsatz anzeigt, werden dem Reaktionsgemisch weitere 6 mg (0.047 mmol) Di-methylaminopyridin, 7 µl (0.047 mmol) Triethylamin, 2 µl 98%ige Ameisensäure (0.047 mmol) und 4 µ (0.047 mmol) Essigsäureanhydrid zugesetzt und 60 Minuten gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt, mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 : 10).

Ausbeute 1c: 5 mg (18%).

Verbindung 1c

Rf (Dichlormethan/Aceton 90 : 10): 0.67.

IR (Film): ν = 3497 (w, b, Sch), 2940 (s, b, Sch), 1725 (vs), 1468 (m, b, Sch), 1379 (m), 1265 (s), 1253 (s), 1175 (vs), 972 (m, b, Sch), 737 (s) cm⁻¹.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 613 (9 [M⁺]), 567 (43), 472 (63), 382 (23), 352 (21), 164 (100), 151 (33), 96 (31), 69 (17), 44 (26).

Hochauflösung: C₂₉H₄₀O₉NSCl
ber.: 613.2112 für [M⁺]
gef.: 613.2131

Verbindung 1d

10 mg (0.020 mmol) Epothilon 3 werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reini-

AEGEAN AIRLINES

gung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schicht-chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: 1 mg (9%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 85 : 15): 0.38.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 543 (3 [M⁺]), 507 (14), 320 (19), 234 (9), 194 (17), 182 (23), 164 (100), 140 (22), 113 (14), 71 (13).

Hochauflösung: C₂₆H₃₄O₆NSCl

ber.: 543.2421 für [M⁺]

gef.: 543.2405

Verbindung 2a

100 mg (0.203 mmol) Epothilon A werden in 4 ml Tetrahydrofuran/1 M Phosphatpuffer pH 7 (1 : 1) gelöst und solange mit Natrium-borhydrid (150 mg 3.965 mmol) versetzt bis das Edukt laut Dünnschicht-chromatogramm vollständig abreagiert ist. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 verdünnt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Kieselchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 95 : 5 – grad – nach Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: (20%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 75 : 25): 0.27.

IR (Film): ν = 3413 (s, b, Sch), 2965 (vs, Sch), 1734 (vs), 1458 (m, b, Sch), 1383 (m, Sch), 1264 (s, b, Sch), 1184 (m, b, Sch), 1059 (s, Sch), 966 (s), 885 (w), 737 (m) cm⁻¹.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 495 (6 [M⁺]), 477 (8), 452 (12), 394 (9), 364 (16), 306 (49), 194 (19), 178 (35), 164 (100), 140 (40), 83 (21), 55 (27).

Hochauflösung: C₂₆H₃₄O₆NS

ber.: 495.2655 für [M⁺]

gef.: 495.2623

Verbindung 3a–d (a–d sind Stereoisomere)

100 mg (0.203 mmol) Epothilon werden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 50 μ (0.686 mmol) Thionylchlorid versetzt und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes und Trennung der vier Stereoisomeren 3a–d erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Verbindung 3a

Ausbeute: 4 mg (12%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.50.

IR (Film): ν = 2961 (m, b, Sch), 1742 (vs), 1701 (vs), 1465 (m, Sch), 1389 (m, Sch), 1238 (s, Sch), 1210 (vs, Sch), 1011 (s, Sch), 957 (s, b, Sch), 808 (m, Sch), 768 (s, Sch) cm⁻¹.

UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 210 (4.50), 248 (4.35)$ nm.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (40 [M⁺]), 457 (22), 352 (16), 316 (27), 222 (30), 178 (30), 164 (100), 151 (43), 96 (38), 69 (29), 55 (28), 43 (20).

⁵ Hochauflösung: C₂₆H₃₄O₇NS₂
ber.: 539.2011 für [M⁺]

Verbindung 3b

Ausbeute: 14 mg (13%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.44.

IR (Film): ν = 2963 (s, br, Sch), 1740 (vs), 1703 (s), 1510 (w), 1464 (m, br, Sch), 1389 (m, Sch), 1240 (s, br, Sch), 1142 (m), 1076 (w), 1037 (w), 1003 (m), 945 (s, br, Sch), 806 (m, Sch), 775 (s), 737 (m) cm⁻¹.

UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 211 (4.16), 250 (4.08)$ nm
MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (27 [M⁺]), 475 (17), 322 (41), 306 (67), 222 (16), 206 (17), 194 (19), 178 (32), 164 (100), 151 (33), 125 (18), 113 (15), 96 (39), 81 (23), 64 (58), 57 (42), 41 (19).

Hochauflösung: C₂₆H₃₄O₇NS₂
ber.: 539.2011 für [M⁺]
gef.: 539.1998

Verbindung 3c

Ausbeute: 4 mg (4%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.38.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (51 [M⁺]), 322 (22), 306 (53), 222 (36), 178 (31), 164 (100), 151 (41), 96 (25), 81 (20), 69 (26), 55 (25), 41 (25).

Hochauflösung: C₂₆H₃₄O₇NS₂
ber.: 539.2011 für [M⁺]
gef.: 539.2001

Verbindung 3d

Ausbeute: 1 mg (1%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.33.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (69 [M⁺]), 322 (35), 306 (51), 222 (41), 178 (31), 164 (100), 151 (46), 96 (31), 81 (26), 69 (34), 55 (33), 41 (35).

Hochauflösung: C₂₆H₃₄O₇NS₂
ber.: 539.2011 für [M⁺]
gef.: 539.1997

Verbindung 4a

10 mg (0.020 mmol) Epothilon A werden in 2 ml Dichlormethan gelöst, auf -70°C abgekühlt und anschließend 5 Minuten mit Ozon bis zur schwachen Blaufärbung behandelt. Das resultierende Reaktionsgemisch wird anschließend mit 0.5 ml Dimethylsulfid versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch vom Lösungsmittel befreit und schließlich durch präparative Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85 : 10 : 5) gereinigt.
Ausbeute: 5 mg (64%).

Rf (Dichlormethan/Aceton/Methanol 85 : 10 : 5): 0.61.

IR (Film): ν = 3468 (s, br, Sch), 2947 (s, br, Sch), 1734 (vs, Sch), 1458 (w), 1380 (w), 1267 (w), 1157 (w), 1080 (w), 982 (w) cm⁻¹.

UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 202 (3.53)$ um.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 398 (2 [M⁺]), 380 (4), 267 (14),

9

249 (17), 211 (20), 193 (26), 171 (34), 139 (34), 111 (40), 96 (100), 71 (48), 43 (50).
 Hochauflösung: $C_{21}H_{34}O_7$
 ber.: 398.2305 für $[M^+]$
 gef.: 398.2295

Verbindung 6a

10 mg (0.018 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A werden in 1 ml Di-chlormethan gelöst, mit 27 μ l (0.180 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 60 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Nach Beseitigung des Lösungsmittel wird das resultierende Rohprodukt in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 μ l einer ammoniakalischen Methanolösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 4 mg (22%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 85 : 15): 0.46.

IR (Film): ν = 3445 (w, br, Sch), 2950 (vs, br, Sch), 1717 (vs, Sch), 1644 (w), 1466 (m, Sch), 1370 (m, Sch), 1267 (s, br, Sch), 1179 (s, Sch), 984 (s, Sch), 860 (w), 733 (m) cm^{-1} .

Uv (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 210 (4.16) nm.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 475 (28 [M $^+$]), 380 (21), 322 (37), 318 (40), 304 (66), 178 (31), 166 (100), 151 (29), 140 (19), 96 (38), 81 (20), 57 (26).

Hochauflösung: $C_{26}H_{37}O_5NS$
 ber.: 475.2392 für $[M^+]$
 gef.: 475.2384

Verbindung 6b

50 mg (0.091 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A werden in 1 ml Dichlorehthan gelöst, mit 2 ml (0.013 mol) 1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 12 Stunden bei 90°C gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des aus zwei Verbindungen bestehenden Rohproduktes erfolgt mittels präparativer Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90:10).

Ausbeute: 7 mg (15%).

Substanzcode

Rf (Dichlormethan/Aceton 90 : 10): 0.62.

IR (Film): ν = 2951 (m, br, Sch), 1723 (vs), 1644 (w, br, Sch), 1468 (w), 1377 (w), 1271 (m, br, Sch), 1179 (s), 987 (m, br, Sch), 735 (w, br, Sch) cm^{-1} .

Uv (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 210 (4.44) nm.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 503 (68 [M $^+$]), 408 (58), 390 (32), 334 (25), 316 (34), 220 (21), 206 (27), 194 (20), 181 (33),

10

164 (100), 151 (34), 139 (28), 113 (20), 96 (82), 81 (33), 67 (24), 55 (26), 43 (22).
 Hochauflösung: $C_{27}H_{37}O_6NS$
 ber.: 503.2342 für $[M^+]$
 gef.: 503.2303

Verbindung 6c

5 mg (0.009 mmol) 3,7-Di-O-acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 150 μ l einer ammoniakalischen Methanolösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei 50°C gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 3 mg (67%).

20 Rf (Dichlormethan/Aceton 90 : 10): 0.55.
 IR (Film): ν = 2934 (s, b, Sch), 1719 (vs, b, Sch), 1641 (m), 1460 (m, Sch), 1372 (s, Sch), 1237 (vs, b, Sch), 1179 (s, Sch), 1020 (s), 963 (s, Sch), 737 (vs) cm^{-1} .
 Uv (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 210 (4.33) nm.

25 MS (20/70 ev): m/e (%) = 517 (57 [M $^+$]), 422 (58), 318 (31), 194 (20), 181 (34), 166 (100), 151 (31), 96 (96), 81 (32), 69 (27), 55 (29), 43 (69).

Hochauflösung: $C_{28}H_{39}O_6NS$
 ber.: 517.2498 für $[M^+]$
 gef.: 517.2492

Verbindung 7a

20 mg (0.041 mmol) Epothilon werden in 0.5 ml Methanol gelöst, mit 0.5 ml 1 N Natronlauge versetzt und 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 85 : 15).

Ausbeute: 11 mg (52%).

Rf (Dichlormethan/Methanol 85 : 15): 0.92.

50 IR (Film): ν = 3438 (s, br, Sch), 2971 (vs, br, Sch), 1703 (vs), 1507 (m), 1460 (s, Sch), 1383 (m, Sch), 1254 (w), 1190 (w, br, Sch), 1011 (w, br, Sch), 866 (w, br), 729 (s) cm^{-1} .
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 423 (0.1 [M $^+$]), 323 (4), 168 (89), 140 (100), 85 (31), 57 (67).

55 Hochauflösung: $C_{23}H_{37}O_4NS$
 ber.: 423.2443 für $[M^+]$
 gef.: 423.2410

Verbindung 7b

5 mg (0.009 mmol) 7-O-Acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 μ l einer ammoniakalischen Methanolösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und zwei Tage bei 50°C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

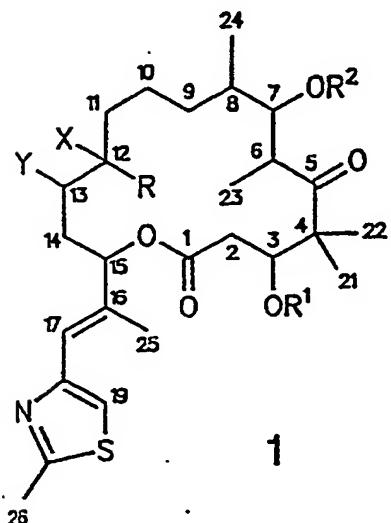
65

Ausbeute: 3 mg (59%).

Rf (Dichlormethan/Methanol 90 : 10): 0.63.
 IR (Film): ν = 3441 (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1732 (vs),
 1600 (w), 1451 (m), 1375 (m), 1246 (s, b, Sch), 1013 (m, b,
 Sch) cm^{-1} .
 UV (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 211 (3.75), 247 (3.59) nm.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 567 (1 [M^+]), 465 (4), 422 (7),
 388 (5), 194 (5), 182 (7), 168 (65), 164 (17), 140 (100), 97
 (10), 71 (22), 43 (27).
 Hochauflösung: $C_{29}H_{45}O_8NS$
 ber.: 567.2866 für $[M^+]$
 gef.: 567.2849

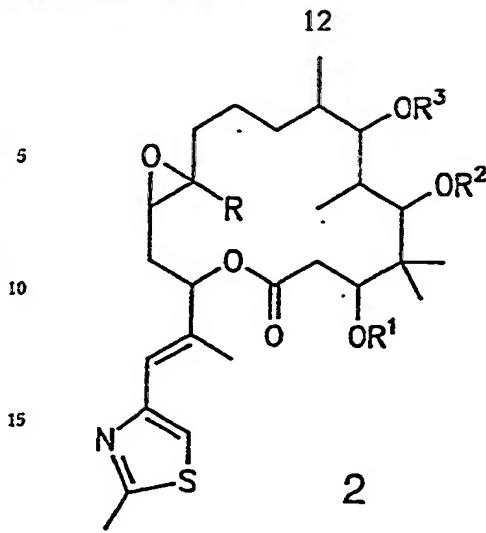
Patentansprüche

1. Epothilonederivat der Formel 1



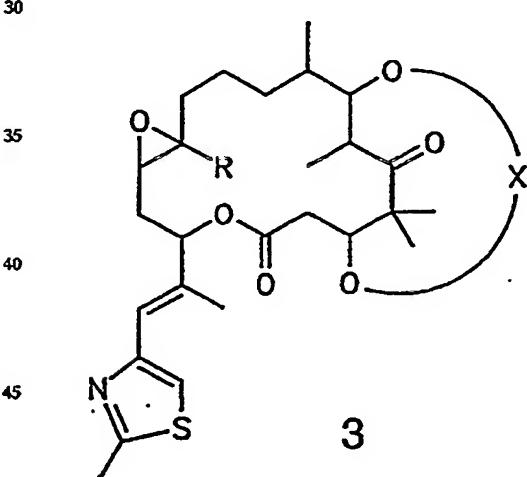
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt, und X und Y entweder gleich oder verschieden sind und jeweils für Halogen, OH, O-(C₁- bis C₆)-Acyl, O-(C₁- bis C₆)-Alkyl, O-Benzoyl stehen.

2. Epothilonederivat der Formel 2



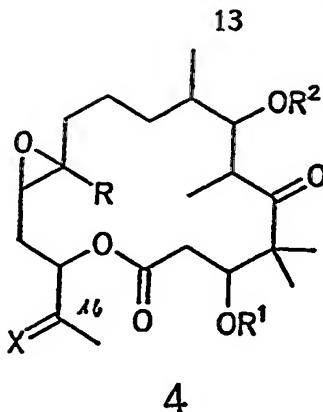
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R², R³ = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt.

3. Epothilonederivat der Formel 3



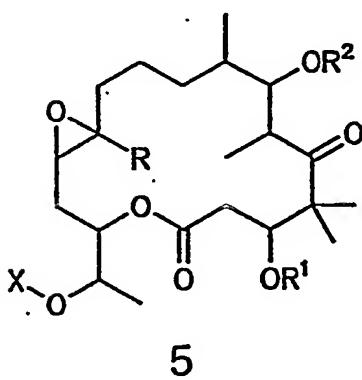
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt, und X allgemein für -C(O)-, -C(S)-, -S(O)-, -CR¹R²- und -SiR₂- steht, wobei R, R¹ und R² die Bedeutung hat wie oben angegeben.

4. Epothilonederivat der Formel 4



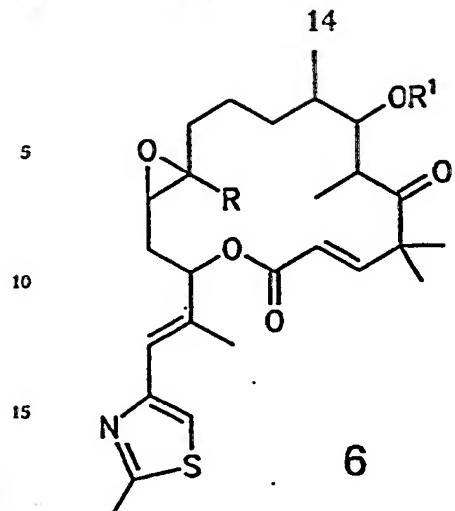
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt, X Sauerstoff, NOR³, N—NR⁴R⁵, und N—NHCONR⁴R⁵ bedeutet, wobei die Reste R³ bis R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben.

5. Epothilonderivat der Formel 5



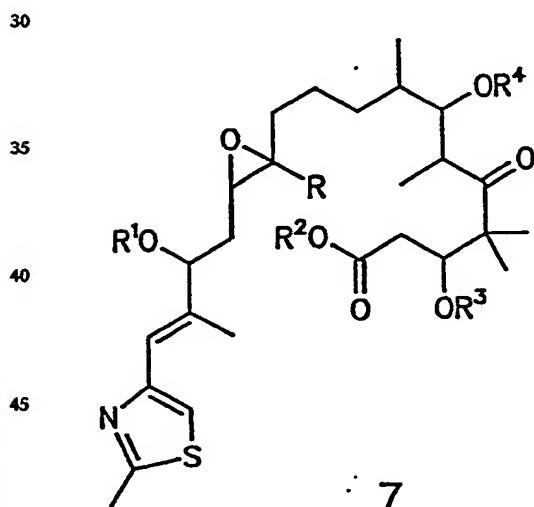
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt, und X Wasserstoff, C₁- bis C₁₈-Alkyl, C₁- bis C₁₈-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl bedeutet.

6. Epothilonderivat der Formel 6



wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl und R¹ = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl ist, und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt.

7. Epothilonderivat der Formel 7



wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl und R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt.

8. Mittel für den Pflanzenschutz in der Landwirtschaft und Forstwirtschaft und/oder im Gartenbau, bestehend aus einem oder mehreren der Verbindungen gemäß einem der vorangehenden Ansprüche oder einer oder mehreren dieser Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

9. Therapeutisches Mittel, insbesondere zum Einsatz als Cytostatikum, bestehend aus einer oder mehrerer der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7 oder einer oder mehreren

rer der Verbindungen nach einem oder mehreren
der Ansprüche 1 bis 7 neben einem oder mehreren
üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel
(n).

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

ANSWER